

Giresun Pazarlarında Satışa Sunulan Peynir Örneklerinden *Enterococcus faecalis* izolasyonu, Moleküler Tanımlanması ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Araştırılması

Tuğba CEBECİ^{1*} 

Öz

Enterokoklar, gıda kontaminasyonundan sorumlu, mevcut virülansları ve çoklu ilaca dirençleri nedeniyle hastane ortamında salgın bir tehdit oluşturabilen fırsatçı patojenlerdir. Bu çalışma, pazarlarda satılan tulum peyniri örneklerindeki *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) kontaminasyonunu ve elde edilen izolatların 17 farklı antibiyotiğe karşı dirençliliklerini araştırmak amacıyla gerçekleştirilmiştir. Giresun İli, 8 sahil ilçesinde kurulan pazarlardan temin edilen toplam 50 adet tulum peynir örneği materyal olarak kullanılmıştır. Yapılan analiz sonuçlarına göre; 50 adet tulum peyniri örneğinin 15 (%30) tanesinin *E. faecalis* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. PCR ile doğrulanan 15 *E. faecalis* izolatının, 6(%40)'sının tetrasiklin'e, 4(%26.6)'ünün rifampin'e, 4(%26.6)'ünün teikoplanin'ine, 3(%20)'ünün siprofloksasin'e, 3(%20)'ünün kloramfenikol'e, 2(%13.3)'sinin eritromisin'e, 2(%13.3)'sinin levofloksasin'e ve 2(%13.3)'sinin fosfomisin'e karşı dirençli olduğu belirlenmiştir. *E. faecalis* izolatlarında vankomisin direnci %93.3 olarak tespit edilmiştir. İzole edilen suşlarda yüksek düzey streptomisin direnci ve yüksek düzey gentamisin direnci saptanmamıştır. Elde edilen veriler sonucunda, peynir örneklerinde bu patojenin saptanması, halk sağlığını ciddi anlamda etkileyen potansiyel risk faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır. Çiftlikten sofraya kadar gelen süreçte; ürünlerin işlenmesi, tüketilmesi ve satışı sırasında gerekli hijyen tedbirlerinin alınması önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Tulum peyniri, *Enterococcus faecalis*, MALDI-TOF MS, antibiyotik duyarlılığı, gıda hijyeni, halk sağlığı.

Isolation, Molecular Identification and Antibiotic Sensitivity of *Enterococcus faecalis* from Cheese Samples Sold in Giresun Public Markets

Abstract

Enterococci are opportunistic pathogens responsible for food contamination that can pose an epidemic threat in the hospital setting due to their current virulence and multidrug resistance. This study was carried out to investigate the contamination *E. faecalis* in the samples of tulum cheese sold in the public markets and antibiotic resistance to 17 different antibiotics of the obtained isolates. A total of 50 tulum cheese samples were used as a material obtained from public markets 8 coastal districts of Giresun province. According to the results of the analysis; 15 out of 50 tulum cheese samples (30%) were found contaminated with *E. faecalis*. Two isolates against (13.3%) fosfomycin, 2 isolates against (13.3%) levofloxacin, 2 isolates against (13.3%) erythromycin, 4 isolates against (26.6%) teicoplanin, 4 isolates against (26.6%) rifampin and 6 isolates against (40%) tetracycline resistance was confirmed by PCR in 15 *E. faecalis* isolates. Vancomycin resistance was found to be 93.3% in *E. faecalis* isolates. None of the strains showed resistance to high level streptomycin and high level gentamicin. As a result of the detection of this pathogen in cheese samples, there is a potential risk factor that seriously affects public health. From farm to table, it is recommended to take necessary hygiene measures during processing, consumption, and sale of the products.

Keywords: Tulum cheese, *Enterococcus faecalis*, MALDI-TOF MS, PCR, antibiotic sensitivity

¹Giresun Üniversitesi, Espiye MYO, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Espiye, Giresun , tuğba.cebeci@giresun.edu.tr

¹<https://orcid.org/0000-0001-8960-0587>

1. Giriş

Tulum peyniri, Türkiye'nin en popüler yarı sert peynirlerinden biridir. Köy halkı tarafından geleneksel yöntemlerle çiğ süttten üretilmekte ve halk pazarlarında pazarlanmaktadır (Colak ve ark., 2007). Peynirler, tüketim için güvenli olarak nitelendirilse de, ciddi semptomlar ve yüksek ölüm oranı ile ilişkili gıda kaynaklı salgınlara neden olduğu görülmektedir (Kousta ve ark., 2010).

Hayvanların ve insanların gastrointestinal (GI) sistemi, genellikle enterokoklar da dahil olmak üzere çeşitli bakterileri barındırır. Enterokoklar, kommensal mikroorganizmalardır, ancak son 20 yılda antimikrobiyal direncin kazanılması nedeniyle hastane kaynaklı önemli patojenler haline gelmiştir (Výrostková ve ark., 2021; Jahansepas ve ark., 2022). Gıdada enterokok oluşumu, zayıf üretim uygulamalarının ve ürün kontaminasyonunun bir göstergesidir (Hussein ve ark., 2020). *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinin suşları fermente peynirde en baskın türler olarak kabul edilmiş ve en sık insan ve hayvan enfeksiyonları ile ilişkilendirilmiştir (Mrkonjic Fuka ve ark., 2017). *E. faecalis*, peynir yapım sürecine ya doğrudan süt yoluyla, su kirletici olarak ya da peynir üretim ve işleme ekipmanı yoluyla girer (Giraffa, 2003; Del Rio ve ark., 2021).

Et ve süt ürünleri gibi gıdalardan izole edilen enterokoklarda antibiyotik direnci oldukça yaygındır. Ayrıca enterokokların klinik pratikte kullanılan antibiyotiklere direnci giderek artmaktadır. Enterokoklarda, antimikrobiyal direnç, gen transfer sistemleri tarafından kazanılır veya içsel olarak bulunur. Vankomisin direnci konjugasyon yoluyla aktarılabilir olarak tanımlanmıştır. Enterokok enfeksiyonlarının tedavisi zordur çünkü doğası gereği antimikrobiyal dirençli *Enterococcus*, yüksek düzeyde aminoglikozit direnç genleri edinmiştir. Antimikrobiyal dirençli hayvansal kökenli enterokokların ortaya çıkışı, bu bakterilerin insanlara bulaşması açısından önemli bir risk oluşturmaktadır (Şanlıbaba ve Şentürk, 2018; Elmalı ve Can, 2018; Özdemir ve Tuncer, 2020; Soni ve ark. 2022).

E. faecalis, gıda güvenliği ve halk sağlığı için bir risk olarak bilinir. Hayvansal gıda ürünlerinden biri olan peynir, *E. faecalis* rezervuarı olabilir ve bunların insanlara yayılmasında ve iletilmesinde önemli bir rol oynayabilir. Giresun iline özgü tulum peyniri örneklerindeki *E. faecalis* prevalansı ve antimikrobiyal yatkınlığı hakkındaki çalışmaların yetersizliği nedeniyle bu çalışmada, *E. faecalis* türünün peynirlerdeki dağılımı ve antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının araştırılması amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Örnek Toplanması

Araştırmada, Mayıs 2019- Mayıs 2020 yılları arasında Giresun sahil şeridinde yer alan Tirebolu (5 örnek), Keşap(5 örnek), Eynesil (3 örnek), Piraziz (5 örnek), Bulancak (10 örnek), Görele (7 örnek), Espiye (10 örnek) ve Merkez (5 örnek) ilçelerine ait olan halk pazarlarından 50 adet tulum peyniri örneği toplanarak steril poşetler içerisine alınmıştır. Tüm numuneler mikrobiyolojik analizler için 2 saat içerisinde soğuk zincir altında Giresun Üniversitesi Espiye Meslek Yüksekokulu Laboratuvarına taşınmıştır. Örnekler laboratuvara getirilerek aynı gün içerisinde analizlere başlanmıştır.

2.2. *E. faecalis* izolasyonu

Araştırmada toplanan tulum peyniri örnekleri 25 g'lık örnekler halinde, steril şişelere hazırlanmış 225'şer ml %0.1 pepton su besiyerlerine ilave edildikten sonra homojenizatörde 2 dakika homojenize edilmiştir. Homojenizasyon işleminden sonra peptonlu su örneklerinden 10⁵'e kadar desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan her bir dilüsyondan 0,1'er ml alınarak Chromocult Enterococci Agar'a (Merck, Darmstadt, Germany) inokulasyonları yapılmıştır ve inokule edilen petri kutuları 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda oluşan tipik kırmızı, küçük ve yuvarlak koloniler şüpheli olarak değerlendirilmiştir. Şüpheli koloniler saflaştırma için Brain Heart Infusion Agar'a (BHIA; Neogen, Lansing, MI, USA) ekilerek, 30°C'de 24 saatlik inkübasyonu takiben koloniler morfolojik olarak ve gram boyama yapılarak saflıkları kontrol edilmiştir (Abouelnaga ve ark., 2016).

2.3. Şüpheli izolatların Matris aracılı lazer dezorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) ile tanımlanması

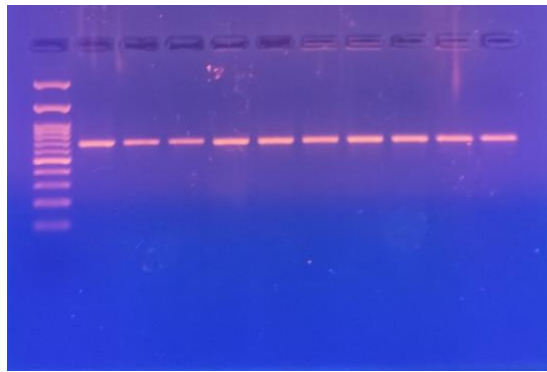
Elde edilen şüpheli izolatların Blood Agar Base'e kültürleri alınmıştır ve 37°C'de 24 saat inkübe edilerek, besiyerinde üreyen şüpheli tipik kolonilerden steril öze ucu ile bir ya da iki koloni olacak şekilde cihaza ait olan slaytlar üzerindeki kuyucuklara sürülmüştür. Bu işlemi takiben kuyucuklara 1 µl matris solüsyonu (% 50 asetonitril ve% 2.5 trifloroasetik asit içinde doymuş-siyano-4-hidroksisinnamik asit çözeltisi) (VITEK MS-CHCA, bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) pipetlenmiş ve kuruyana kadar oda koşullarında 1-2 dk bekletilmiştir. Slayt kasete yerleştirilerek VITEK MALDI-TOF MS'e yüklenmiştir (Moon ve ark., 2013).

2.4. DNA izolasyonu

Enterococcus izolatlarının genomik DNA'ları, bir öze dolusu ekim yapılmış bir gecelik Brain Heart Infusion (Neogen Corporation, Acumedia, Lansing, MI) kültüründen ekstrakte edilmiş ve lizis tamponuna (%0.25 SDS ve 0.05M NaOH) aktarılmıştır. Süspansiyon 95-100 °C'de 5 dakika inkübe edilmiş ve 5 dakika 13.000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Daha sonra 180 µL Tris-HCl 10 mM (pH=8.5) eklenmiş ve süspansiyon 7 dakika 13.000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Süpernatant temiz eppendorfa aktarılmış ve kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklanmıştır (Russo ve ark., 2018).

2.5. İzolatların polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile doğrulanması

MALDI-TOF MS yöntemi kullanılarak tanımlanan tüm *E. faecalis* izolatları, 16S rRNA 5'-AGCGCAGGCGGTTTCTTAA-3' ve 5'-CTCGTTGTACTTCCCATTGT-3' (678bp) (Chotinantakul ve ark., 2018) spesifik primeri kullanılarak PCR ile doğrulanmıştır. Virülans genleri için ise PCR karışımı, toplam 50 µl hacimde 10X PCR Buffer, 1,5 mM MgCl₂, 200 mM dNTP, 1,4U Taq-Polymerase, her primerden 0,2 mM ve 5 µl DNA olacak şekilde hazırlanmıştır. Gen amplifikasyonu ise 94°C'de 4 dakika ilk denatürasyon ve 35 siklus, 94°C'de 30 saniye denatürasyon, 56°C'de 30 saniye primer bağlanması, 72°C'de 1 dakika primer uzaması ve 72°C'de 10 dakika son uzama olacak şekilde programlanmıştır. Elde edilen ampliconlar elektroforez işlemi için % 1,5'lik agaroz içinde 80 volt akımda 50 dakika koşturulmuştur. Elektroforez sonunda genler UV transilluminatörde görüntülenmiştir.



Şekil 1. *E. faecalis* izolatlarının PCR görüntüsü

2.6. İzolatların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi

İzolatlarda antibiyotik duyarlılığını belirlemek için; penisilin (P, 10 units), ampicilin (AM, 10 µg), vankomisin (VA, 30 µg, 5 µg), teikoplanin (TEC, 30 µg), eritromisin (E, 15 µg), tetrasiklin (TE,

30 µg), siprofloksasin (CIP, 5 µg), rifampin (RD, 5 µg), kloramfenikol (C, 30 µg), linezolid (LNZ, 30 µg), imipenem (IPM, 10 µg), fosfomisin (FF, 200 µg), levofloksasin (LEV, 5 µg), nitrofrontoin (F, 300 µg), tigesiklin (TGC, 15 µg), streptomisin (S, 300 µg) ve gentamisin (CN, 120 µg) antibiyotik diskleri kullanılmıştır. *E. faecalis* izolatlarının 17 farklı antibiyotiğe dirençlilik/duyarlılık durumlarının belirlenmesinde Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından önerilen standart disk diffüzyon tekniği kullanılmıştır. İnkübasyon sonrasında disklerin çevresinde oluşan inhibisyon bölgelerinin çapları ölçülmüştür ve CLSI (2022) ve EUCAST (2022)'de açıklanan zon bölge tablosuna göre değerlendirilmiştir. Kontrol suşu olarak *S. aureus* ATCC 25923 kullanılmıştır.



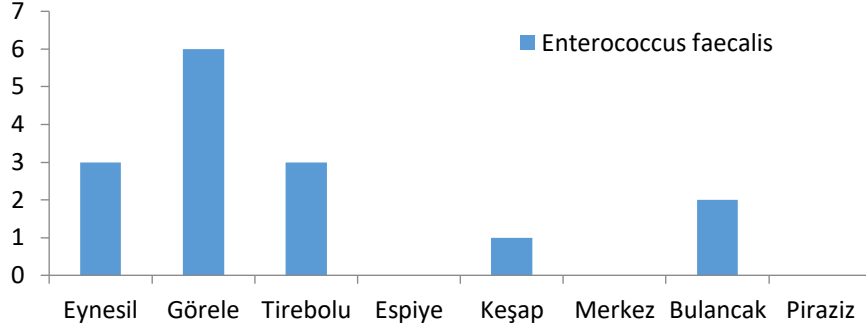
Şekil 2. *E. faecalis* antibiyogram görüntüsü

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. *E. faecalis* varlığı

Hem gıda hem de insan numunelerinden elde edilen enterokoklardaki virülans karakterlerinin benzerlikleri, hayvansal gıdaların alınmasının enterokok enfeksiyonlarında önemli bir kaynak olabileceğini düşündürmektedir. Geleneksel peynir çeşitlerinde başta *E. faecalis* ve *E. faecium* olmak üzere enterokokların dağılımı insan sağlığı açısından potansiyel risk oluşturmaktadır ve yakından takip edilmelidir (Kürekci ve ark., 2016; Jahansepas ve ark., 2020). Bu çalışmada, Giresun ilinde nüfusun büyük bir bölümü tarafından tüketilen tulum peyniri yoluyla *E. faecalis*'in potansiyel yayılımı değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, tulum peyniri örneklerinden izole edilen toplam 15 (%30) *E. faecalis* izolatının, 6 tanesi Görele, 3 tanesi Eynesil, 3 tanesi Tirebolu, 2 tanesi Bulancak ve 1 tanesi Keşap ilçelerinde tespit edilmiştir. Türkiye (Sanlibaba ve Senturk, 2018) dahil Hırvatistan (Mrkonjic Fuka ve ark., 2017) ve İran (Jahansepas ve ark., 2022) gibi çeşitli ülkelerdeki çalışmalarda, tüketime sunulan peynir için *E. faecalis* kontaminasyonu insidansı %42.4–%83.3 olarak bildirilmiştir. *E.*

faecalis 'nin peynir prevalansına ilişkin mevcut veriler çeşitlidir. *E. faecalis*'in peynirdeki yaygınlık oranlarındaki farklılıklar, gıda işleme sırasında üretim, nakliye ve hijyen koşullarındaki farklılıkları yansıtabilir.



Şekil 3. *E. faecalis* varlığının ilçelere göre dağılımı

3.2. Antibiyotik duyarlılık sonuçları

Antibiyotiklere sürekli maruz kalma ve bunların sırasıyla profilaktik ajanlar veya büyüme destekleyicileri olarak insan ve veteriner ilaçlarında yoğun kullanımı, birden fazla farklı antibiyotik sınıfına dirençli enterokok suşlarının insidansında artışa neden olmuştur (Economou ve ark., 2016). Bu çalışmada, *E. faecalis* suşları, veterinerlik ve insan sağlığı açısından önemi olan 17 antibiyotiğe karşı duyarlılık açısından test edilmiştir. Bu çalışmada, yapılan antibiyotik dirençlilik testleri sonucunda peynirlerden elde edilen *E. faecalis* izolatlarının 6 tanesinin (%40) tetrasiklin'e, 4 tanesinin (%26.6) rifampin'e, 4 tanesinin (%26.6) teikoplanin'ine, 3 tanesinin (%20) siprofloksasin'e, 3 tanesinin (%20) kloramfenikol'e, 2 tanesinin (%13.3) eritromisin'e, 2 tanesinin (%13.3) levofloksasin'e ve 2 tanesinin (%13.3) fosfomisin'e dirençli oldukları, izolatların 12 tanesinin (%80) eritromisin'e, 12 tanesinin (%80) siprofloksasin'e, 11 tanesinin (%73.3) teikoplanin'ine, 3 tanesinin (%20) nitrofrontoin'e, 2 tanesinin (%13.3) rifampin'e, 1 tanesinin (%6.6) ampisilin'e ve 1 tanesinin (%6.6) tetrasiklin'e orta dirençli oldukları saptanmıştır. Araştırma sonuçlarına benzer şekilde Sanlibaba ve Senturk (2018), peynir izolatlarının rifampine, tetrasikline ve siprofloksasine karşı yüksek bir direnç yüzdesine sahip olduklarını bulmuşlardır. Ayrıca Vřrostková ve ark. (2021)'lerinin peynir izolatlarında, yüksek direnç yüzdesine sahip antibiyotikler arasında rifampin olduğunu bildirmişlerdir. Benzer konuda yapılan diğer bir çalışmada da, *E. faecalis* izolatlarının farklı antibiyotiklere karşı dirençliliklerinde farklılıklar bulduklarını belirtmişlerdir (Elmalı ve Can, 2018). Bu çalışmada değerlendirilen antibiyotiklere karşı fenotipik olarak değişik direnç seviyeleri tespit edilmiştir. Veriler arasındaki değişkenlikler, farklı coğrafi bölgeler arasında numune tipi, izolat sayısı ve izolatın genetik varyasyonundaki farklılıklar olabilir. Antibiyotik kullanımındaki farklılıklardan dolayı bu dalgalanmaların ülkeler arasında farklılık göstermesi beklenebilir.

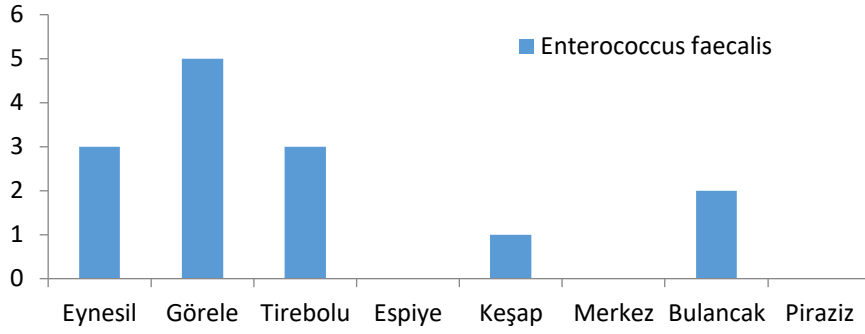
Tablo 1. Tulum peyniri örneklerinden izole edilen *E. faecalis* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları

Antibiyotikler	<i>E. faecalis</i> izolatları														
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13	E14	E15
VA	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
P	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
AM	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S
TEC	R	R	I	R	I	I	R	I	I	I	I	I	I	I	I
E	I	S	I	I	I	I	I	I	I	I	R	I	I	I	R
TE	S	S	S	R	S	R	R	S	R	I	R	S	S	S	R
CIP	I	I	I	I	I	R	I	I	I	I	R	I	I	I	R
LEV	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
F	S	I	I	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
TGC	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IPM	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
RD	S	I	S	S	S	I	R	R	R	S	S	S	S	S	R
FF	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
C	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
LNZ	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
YDS.	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
YDG	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

VA; Vankomisin, P; Penisilin, AM; Ampisilin, TEC; Teikoplanin, E; Eritromisin, TE; Tetrasiklin, CIP; Siprofloksasin, LEV; Levofloksasin, F; Nitrofrontoin, TGC; Tigesiklin, IPM; İmipenem, RD; Rifampin, FF; Fosfomisin, C; Kloramfenikol, LNZ; Linezolid, YDS.; Yüksek Düzey Streptomisin, YDG; Yüksek düzey gentamisin.

3.3. Vankomisin dirençliliği

Vankomisine dirençli enterokok (VRE) enfeksiyonları, giderek yaygınlaşmakta ve tedavi edilmesi güçleşmekte olup, genellikle enfeksiyon kontrolü için muazzam zorluklar oluşturan uzun süreli hastane salgınları olarak ortaya çıkmaktadır (Rubinstein ve Keynan, 2013). Üretim ortamında ve/veya peynirlerde vankomisine dirençli mikroorganizmaların varlığı insanlar için ciddi bir sağlık riski oluşturabilir (Aragão ve ark., 2022). Bu çalışmada, yapılan antibiyotik dirençlilik testleri sonucunda peynirlerden elde edilen toplam 15 *E. faecalis* izolatının 14(%93.3)'ünün vankomisin'e dirençli oldukları bulunmuştur. Vankomisin dirençli 14 *E. faecalis* izolatının, 5 tanesi Görele, 3 tanesi Eynesil, 3 tanesi Tirebolu, 2 tanesi Bulancak ve 1 tanesi Keşap ilçelerinde tespit edilmiştir. Vankomisin'e karşı ülkemizde %80 direnç oranı bildirilmiştir (Yuksel ve ark. 2015; Ayhan ve ark., 2020). Bu oran dünya genelinde farklılıklar göstermekte olup Polonya'da %3.1 (Chajęcka-Wierzchowska ve ark., 2020), Mısır'da %72.2 (Sadek ve Koriem, 2022) ve Hindistan'da % 67.12 (Soni ve ark., 2022) olarak bildirilmiştir.



Şekil 4. Vankomisin dirençli *E. faecalis* izolatlarının ilçelere göre dağılımı

3.4. Yüksek düzey aminoglikozit dirençliliği

Yüksek düzey aminoglikozite dirençli (YDAD) enterokoklar ilk olarak 1980'lerde insanlarda rapor edilmiş ve dünya çapında çiğ süt veya süt ürünlerinde antimikrobiyal direnç profillerini araştıran çeşitli çalışmalarda tanımlanmıştır (Kang ve ark., 2021; Chajęcka-Wierzchowska ve ark., 2021; Palmeri ve ark., 2020). Bu çalışmada tulum peyniri örneklerinden elde edilen 15 *E. faecalis* izolatlarında yüksek düzey streptomisin ve yüksek düzey gentamisin direnci tespit edilmemiştir. Türkiye'de peynir örneklerinde YDG ve YDS direnç gösteren enterokok varlığını belirlemek üzerine yapılan çalışmalarda Aksaray ilinde tüketilen tulum peyniri örneklerinde YDS direnci gösteren *E. faecalis* oranı % 32 ve YDG direnci gösteren *E. faecalis* oranı % 8 olarak bulunmuştur (Ayhan ve ark., 2020). Şanlıbaba ve Şentürk (2018) gerçekleştirdikleri benzer bir çalışmada peynir örneklerinden izole ettikleri 125 *E. faecalis* izolatında %4 oranında YDG direnci tespit ettiklerini rapor etmişlerdir. Başka bir geleneksel İran peynirinde Jahansepas ve ark. (2019), 165 *E. faecalis* izolatında YDS ve YDG direnci tespit etmediklerini bildirmişlerdir. Gözlemlediğimiz YDAD prevalansı ve izole edilen YDAD enterokoklarının birincil kaynakları belirsiz olsa da, enterokokların farklı izolasyon kaynaklarında yapılan çalışmalarla birlikte, gıda hayvanlarında antibiyotik kullanımı ile insan bağırsağında antibiyotiğe dirençli bakterilerin varlığı arasında bir bağlantı olduğunu göstermiştir (Levy ve Marshall, 2004; Han ve ark., 2011; Ramos ve ark., 2020).

4. Sonuçlar ve Öneriler

Sonuç olarak; Giresun'da tüketime sunulan 50 peynir örneğinin %30'unun *E. faecalis* ile kontamine olması, açıkta satışa sunulan tulum peynirlerinin potansiyel sağlık tehlikesi oluşturabileceğini ortaya koymaktadır. Pazar ortamlarında bu bakterinin mevcudiyeti, diğer açıkta satılan ürünlere çapraz bulaşma olasılığı riskini taşımaktadır. Ayrıca *E. faecalis* izolatlarını tedavi

etmek için yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı dirençli olmaları endişe vericidir ve halk sağlığı için ciddi bir tehlike oluşturur. Antimikrobiyal dirençle birlikte artan bir tehdit daha mevcuttur. Direnç genlerinin enterokoklar tarafından edinilmesinin kolaylığı göz önüne alındığında, antibiyotiklerin terapötik ajanlar olarak ihtiyatlı kullanımı, antibiyotik direnç probleminin yönetiminde önemli bir araçtır. Farklı kaynaklardaki Enterokok yayılımı hakkındaki epidemiyolojik bilgileri izlemeye büyük ihtiyaç vardır. Bu nedenle, perakende pazarlarda *E. faecalis*'in peynirden kaynaklanan kontaminasyon ve kontaminasyonun farklı kaynaklardan izlenmesi, moleküler özelliklerinin sistematik bir değerlendirmesinin yapılması, antimikrobiyal ajanların kullanımının kontrol edilmesi ve ilaca çok dirençli suşların yayılmasını önlemek için proaktif önlemler alınmaları gerekmektedir.

Araştırma ve Yayın Etiği Beyanı

Yapılan çalışmada araştırma ve yayın etiğine uyulmuştur.

Kaynaklar

- Abouelnaga, M., Lamas, A., Quintela-Baluja, M., Osman, M., Miranda, J. M., Cepeda, A., and Franco, C. M. (2016). Evaluation of the extent of spreading of virulence factors and antibiotic resistance in Enterococci isolated from fermented and unfermented foods. *Annals of Microbiology*, 66(2), 577-585.
- Aragão, B. B., Trajano, S. C., de Oliveira, R. P., da Conceição Carvalho, M., de Carvalho, R. G., Juliano, M. A., Junior, J. W. P., and Mota, R. A. (2022). Occurrence of emerging multiresistant pathogens in the production chain of artisanal goat coalho cheese in Brazil. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 84, 101785.
- Ayhan, Ş., Kahve, H. İ., Aydın, F., and Ardiç, M. (2020). Antibiotic resistance and hemolytic activity in enterococci isolated from tulum cheese sold in Aksaray province. *Gıda*, 45(4), 689-698.
- Chajęcka-Wierzchowska, W., Zadernowska, A., and García-Solache, M. (2020). Ready-to-eat dairy products as a source of multidrug-resistant *Enterococcus* strains: Phenotypic and genotypic characteristics. *Journal of dairy science*, 103(5), 4068-4077.
- Chotinantakul, K., Chansiw, N., and Okada, S. (2018). Antimicrobial resistance of *Enterococcus* spp. isolated from Thai fermented pork in Chiang Rai Province, Thailand. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 12, 143-148.
- Clinical and Laboratory Standard Institute (2022) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 32th Informational Supplement CLSI supplement M100-A32. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Colak, H., Hampikyan, H., Bingol, E. B., and Ulusoy, B. (2007). Prevalence of *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. in tulum cheese. *Food Control*, 18(5), 576-579.
- Del Rio, B., Sánchez-Llana, E., Martínez, N., Fernández, M., Ladero, V., and Alvarez, M. A. (2021). Isolation and characterization of *Enterococcus faecalis*-infecting bacteriophages from different cheese types. *Frontiers in Microbiology*, 3409.
- Economou, V., Sakkas, H., Delis, G., and Gousia, P. (2016). Antibiotic resistance in *Enterococcus* spp. Friend or foe?. *Foodborne pathogens and antibiotic resistance*, 365-395.
- Elmalı, M., and Can, H. Y. (2018). The prevalence, vancomycin resistance and virulence gene profiles of *Enterococcus* species recovered from different foods of animal origin. *Veterinarski arhiv*, 88(1), 111-124.
- EUCAST (2022): The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST supplement 2022: Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, version 12.0, Växjö, Sweden.

- Giraffa, G. (2003). Functionality of enterococci in dairy products. *International journal of food microbiology*, 88(2-3), 215-222.
- Han, D., Unno, T., Jang, J., Lim, K., Lee, S. N., Ko, G., Sadowsky, M. J., and Hur, H. G. (2011). The occurrence of virulence traits among high-level aminoglycosides resistant *Enterococcus* isolates obtained from feces of humans, animals, and birds in South Korea. *International journal of food microbiology*, 144(3), 387-392.
- Hussein, W. E., Abdelhamid, A. G., Rocha-Mendoza, D., García-Cano, I., and Yousef, A. E. (2020). Assessment of safety and probiotic traits of *Enterococcus durans* OSY-EGY, isolated from Egyptian artisanal cheese, using comparative genomics and phenotypic analyses. *Frontiers in microbiology*, 11, 608314.
- Jahansepas, A., Sharifi, Y., Aghazadeh, M., and Ahangarzadeh Rezaee, M. (2020). Comparative analysis of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* strains isolated from clinical samples and traditional cheese types in the Northwest of Iran: Antimicrobial susceptibility and virulence traits. *Archives of microbiology*, 202, 765-772.
- Jahansepas, A., Aghazadeh, M., Rezaee, M. A., Heidarzadeh, S., Mardaneh, J., Mohammadzadeh, A., and Pouresmaeil, O. (2022). Prevalence, antibiotic resistance and virulence of *Enterococcus* spp. isolated from traditional cheese types. *Ethiopian Journal of Health Sciences*, 32(4), 799-808.
- Kang, H. J., Yoon, S., Kim, K., and Lee, Y. J. (2021). Characteristics of high-level aminoglycoside-resistant *Enterococcus faecalis* isolated from bulk tank milk in Korea. *Animals*, 11(6), 1724.
- Kousta, M., Mataragas, M., Skandamis, P., and Drosinos, E. H. (2010). Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels. *Food control*, 21(6), 805-815.
- Kürekci, C., Önen, S. P., Yipel, M., Aslantaş, Ö., and Gündoğdu, A. (2016). Characterisation of phenotypic and genotypic antibiotic resistance profile of enterococci from cheeses in Turkey. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(3), 352.
- Levy, S. B., and Marshall, B. (2004). Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nature medicine*, 10(Suppl 12), S122-S129.
- Moon, H. W., Lee, S. H., Chung, H. S., Lee, M., and Lee, K. (2013). Performance of the Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry system for identification of Gram-positive cocci routinely isolated in clinical microbiology laboratories. *Journal of medical microbiology*, 62(9), 1301-1306.
- Mrkonjic Fuka, M., Zgomba Maksimovic, A., Tanuwidjaja, I., Hulak, N., and Schloter, M. (2017). Characterization of enterococcal community isolated from an artisan Istrian raw milk cheese: Biotechnological and safety aspects. *Food Technology and Biotechnology*, 55(3), 368-380.
- Palmeri, M., Mancuso, I., Gaglio, R., Arcuri, L., Barreca, S., Barbaccia, P., and Scatassa, M. L. (2020). Identification and evaluation of antimicrobial resistance of enterococci isolated from raw ewes' and cows' milk collected in western Sicily: A preliminary investigation. *Italian Journal of Food Safety*, 9(4).
- Ramos, S., Silva, V., Dapkevicius, M. D. L. E., Igrejas, G., and Poeta, P. (2020). Enterococci, from harmless bacteria to a pathogen. *Microorganisms*, 8(8), 1118.
- Russo, N., Caggia, C., Pino, A., Coque, T. M., Arioli, S., and Randazzo, C. L. (2018). *Enterococcus* spp. in ragusano PDO and pecorino siciliano cheese types: a snapshot of their antibiotic resistance distribution. *Food and Chemical Toxicology*, 120, 277-286.
- Rubinstein, E., and Keynan, Y. (2013). Vancomycin-resistant enterococci. *Critical care clinics*, 29(4), 841-852.
- Sadek, O. A., and Koriem, A. M. (2022). Multidrug Resistance and Virulence Factors of Enterococci Isolated from Milk and Some Dairy Desserts. *Journal of food quality and hazards control*.
- Sanlibaba, P., and Senturk, E. (2018). Prevalence, characterization and antibiotic resistance of enterococci from traditional cheeses in Turkey. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 1955-1963.
- Smith, D. L., Harris, A. D., Johnson, J. A., Silbergeld, E. K., and Morris Jr, J. G. (2002). Animal antibiotic use has an early but important impact on the emergence of antibiotic resistance in human commensal bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(9), 6434-6439.
- Soni, M. M., Anjaria, P. A., Bhavsar, P. P., Nayak, J. B., Chaudhary, J. H., and Brahmabhatt, M. N. (2022). Isolation and Molecular Detection of *Enterococcus faecalis* from Cow Milk of Anand City with Special Reference to Biofilm Production and Multiple Drug Resistance. *Indian Journal of Veterinary Sciences & Biotechnology*, 18(4), 6-9.
- Výrostková, J., Regecová, I., Dudriková, E., Marcinčák, S., Vargová, M., Kováčová, M., and Maľová, J. (2021). Antimicrobial resistance of *Enterococcus* spp. isolated from sheep and goat cheeses. *Foods*, 10(8), 1844.

Yuksel, F. N., Akcelik, N., and Akcelik, M. (2015). Incidence of antibiotic resistance and virulence determinants in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* strains, isolated from traditional cheeses in Turkey. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 30, 206-215.